FICHE TECHNIQUE

# GELOSE POUR LE COMPTAGE DES GERMES DE SURFACE

DENOMBREMENT DES GERMES DE SURFACE — BK130HA

## 1 DOMAINE D'UTILISATION

La gélose pour le comptage des germes de surface permet de dénombrer les microorganismes par application directe de gélose sur les surfaces à tester. Le milieu, dérivé de la gélose caséine-soja, contient 4 substances neutralisantes qui assurent l'inactivation de la plupart des désinfectants pouvant se trouver éventuellement présents à l'état de traces après un nettoyage. Cette association facilite le développement des microorganismes résiduels revivifiables. La mise en œuvre de cette technique simplifiée permet de bien vérifier l'état sanitaire de l'équipement après le nettoyage et la désinfection. En outre, elle peut servir à l'estimation de la charge bactérienne cutanée du personnel.

## 2 PRINCIPES

L'association entre la peptone de caséine (Tryptone) et la peptone de soja permet d'obtenir une croissance optimale qui est due à la synergie réalisée entre l'apport protidique de la caséine et l'apport glucidique du soja.

Le chlorure de sodium maintient l'équilibre osmotique.

L'association lécithine-polysorbate-histidine-thiosulfate permet de neutraliser la plupart des désinfectants.

Le polysorbate neutralise l'hexachlorophène et les phénols.

La lécithine neutralise l'activité de la chlorhexidine et des phénols.

L'association entre la lécithine et le polysorbate provoque l'inhibition des ammoniums quaternaires.

Le thiosulfate de sodium neutralise les dérivés halogénés.

## 3 PREPARATION

- Mettre en suspension 52,2 g de milieu déshydraté (BK130) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.

✓ **Reconstitution :**
**52,2 g/L**

✓ **Stérilisation :**
**15 min à 121 °C**

## 4 MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47 °C.
- Couler la gélose dans une boîte de Petri quadrillée stérile, de 50 à 70 mm de diamètre.
- La quantité de milieu versé doit permettre l'obtention d'un ménisque bien formé.
- Laisser solidifier sur une surface froide, sous flux laminaire d'air stérile et remettre le couvercle sur la boîte.
- Pour évaluer l'état sanitaire des surfaces, appliquer directement la gélose sur la surface à tester, sans appuyer trop fortement et sans déplacer la boîte, de telle façon que le ménisque ne soit pas détérioré.
- Incuber à 30 °C ou à 37 °C pendant 24 heures à 48 heures suivant le protocole utilisé.

## 5 LECTURE

Procéder au comptage des colonies. Le quadrillage du fond des boîtes permet de faciliter la numération.
Pour l'identification des micro-organismes, mettre en place les tests biochimiques et microbiologiques nécessaires.




Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 - 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 - www.biokar-diagnostics.fr

## 6 FORMULE-TYPE

Cette formule-type peut être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone ........................................ 15,0 g
- Peptone papaïnique de soja ........................................ 5,0 g
- Chlorure de sodium ........................................ 5,0 g
- Lécithine ........................................ 0,7 g
- Polysorbate (Tween 80) ........................................ 5,0 g
- Thiosulfate de sodium, $5H_2O$ ........................................ 0,5 g
- L-histidine ........................................ 1,0 g
- Agar agar bactériologique ........................................ 20,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25 °C : 7,3 ± 0,2.

## 7 CONTROLE QUALITE

Milieu déshydraté : poudre blanc-crème, homogène, légèrement mottée.

Milieu préparé : gélose ambrée.

Réponse culturale typique après 48 heures d'incubation à 32,5 °C (NF EN ISO 11133) :

| Microorganismes | | Croissance (Rapport de productivité : $P_R$) |
|---|---|---|
| *Escherichia coli* | WDCM 00012 | $P_R \geq 70\%$ |
| *Staphylococcus aureus* | WDCM 00033 | $P_R \geq 70\%$ |
| *Pseudomonas aeruginosa* | WDCM 00026 | $P_R \geq 70\%$ |
| *Candida albicans* | WDCM 00054 | $P_R \geq 70\%$ |
| [1]*Aspergillus brasiliensis* | WDCM 00053 | $P_R \geq 70\%$ |

[1] Incuber pendant 72 heures.

## 8 CONSERVATION

**Milieu déshydraté :** 2-8 °C.
Milieu préparé en tubes ou en flacons : 6 mois à 2-8 °C (à titre indicatif)*.
Milieu préparé en boîtes : 1 mois à 2-8 °C (à titre indicatif)*.

La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

## 9 PRESENTATION

**Milieu déshydraté :**
Flacon de 500 g ........................................ BK130HA

## 10 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rozier, J., et Pantaléon, J. 1969. Méthode simple et rapide d'appréciation des flores microbiennes de surface. Bull. Acad. Vet., XII: 119-125.

Desbordes, J. 1977. Biodégradation microbienne des antiseptiques et conservateurs. Revue de l'Institut Pasteur de Lyon, 10 (4): 291-311.

Drouin, P., et Toux J.Y. 1985. Méthode bactériologique pour apprécier la désinfection des poulaillers. Bull. d'Inf. Station Exp. d'Aviculture de Ploufragan, 25: 176-178.

Singer, S. 1987. The use of Preservative Neutralizers in Diluents and Plating Media. Cosmetics and Toiletries, 102: 55-60.

## 11 AUTRES INFORMATIONS

* Valeur indicative obtenue dans les conditions standards du laboratoire et suivant les instructions du fabricant.

Les mentions portées sur les étiquettes sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document et sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BK130/FR/2000-11 : 6.
Date création : 11-2000
Date de révision : 01-2015
Motif de révision : Révision générale.




Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 - 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 - www.biokar-diagnostics.fr